

G01N 21/77B
G01N 33/543K002
JP 61271458

G01N 33/53
US 4980278
JP 61271459

ft
C2

(51) Int. Cl. 4:

G01N 33/53

G 01 N 33/80
G 01 N 21/25
C 12 Q 1/00



**DEUTSCHES
PATENTAMT**

(21) Aktenzeichen: P 36 17 763.6-52
(22) Anmeldetag: 27. 5. 86
(43) Offenlegungstag: 4. 12. 86
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 17. 8. 89

DE 3617763 C2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

(30) Unionspriorität: (32) (33) (31)
28.05.85 JP 113,052/85 28.05.85 JP 113,055/85
(73) Patentinhaber:
Olympus Optical Co., Ltd., Tokio/Tokyo, JP
(74) Vertreter:
Wuesthoff, F., Dr.-Ing.; Frhr. von Pechmann, E.,
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Behrens, D., Dr.-Ing.; Goetz,
R., Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing.; Hellfeld von, A.,
Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte, 8000 München

(72) Erfinder:
Yamada, Takashi, Sagamihara, Kanagawa, JP;
Kaneko, Nobutaka, Hachioji, Tokio/Tokyo, JP;
Tabara, Takashi, Kokubunji, Tokio/Tokyo, JP;
Takahashi, Takeo, Hachioji, Tokio/Tokyo, JP

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht gezogene Druckschriften:
DE-PS 32 46 873
DE-OS 25 50 420

(54) Vorrichtung zur Bestimmung von Antigen oder Antikörper

DE 3617763 C2

Beschreibung

Aufgrund der jüngsten Fortschritte auf medizinischem Gebiet ist es möglich geworden, sehr kleine Mengen biologischer Substanzen zu bestimmen und dies trägt zu einer frühen Diagnose verschiedener Krankheiten bei. Zum Beispiel können bösartige Tumore etwa durch Alpha-Fetoprotein (AFP) und carcinoembryonales Antigen (CEA), eine abnorme Hormonsekretion wie von Insulin und Thyroxin oder immunologische Erkrankungen, z. B. durch Immunglobulin in einem frühen Stadium diagnostiziert werden. Ferner ist es möglich geworden, den Verlauf bzw. Erfolg einer medizinischen Behandlung zu überwachen. Darüber hinaus trägt die Analyse von niedermolekularen Haptenen (wie Arzneimitteln) dazu bei, ein Verabreichungsschema für Arzneimittel zu entwickeln.

Die meisten dieser biologischen Substanzen werden mit Hilfe eines immunologischen Verfahrens analysiert, bei dem die Antigen-Antikörper-Reaktion ausgenutzt wird. Es sind viele unterschiedliche immunologische Analyseverfahren bekannt. Z. B. wird Antigen oder Antikörper an feine Teilchen aus Glas oder synthetischem Harz fixiert und mit einer Probe von Antikörper oder Antigen zusammengebracht, während markierender Antikörper oder Antigen, die mit sehr empfindlichen Markierungssubstanzen, wie Radioisotopen, fluoreszierenden Substanzen, lumineszierenden Substanzen bzw. Enzymen markiert sind, angewandt werden, um einen Antigen-Antikörper-Komplex zu bilden. Dann wird der Antigen-Antikörper-Komplex nachgewiesen, um das in der Probe enthaltene Antigen bzw. den Antikörper quantitativ zu bestimmen.

Bei dem bekannten immunologischen Bestimmungsverfahren, bei dem ein Markierungsreagens, enthaltend Antikörper oder Antigen, angewandt wird, wird, nachdem der auf dem Träger fixierte Antikörper bzw. das Antigen mit dem Antigen bzw. Antikörper der Probe reagiert hat, die erste B-F-Trennung durchgeführt, und nachdem das Antigen bzw. der Antikörper der Probe mit dem Markierungsreagens reagiert hat, wird die zweite B-F-Trennung durchgeführt. Daher erfordert die Analyse zahlreiche Stufen und das Analyseverfahren wird kompliziert. Außerdem ist es erforderlich, verschiedene Arten von Reagentien zu verwenden, wodurch die laufenden Kosten hoch werden. Es ist zu bemerken, daß eine Analysiervorrichtung zur Durchführung der bekannten Analyse ebenfalls kompliziert und teuer wird.

Da die zu bestimmende Substanz indirekt nachgewiesen wird unter Anwendung des Markierungsreagens als Mittler, kann die Analyse leicht durch geringe Änderungen der äußeren Bedingungen während des Bestimmungsverfahrens beeinträchtigt werden. Wenn z. B. die Waschstufe nicht korrekt durchgeführt wird, können Meßfehler auftreten.

Immunologische Bestimmungen werden auch angewandt zur Identifizierung oder Bestimmung von Blutgruppen. Zum Beispiel ist in der DE-PS 32 46 873 ein Verfahren zur Bestimmung von Blutgruppen durch photoelektrischen Nachweis eines Agglutinationsmusters beschrieben. Bei diesem bekannten Verfahren werden Blutkörperchen zunächst abzentrifugiert und dann die abgetrennten Blutkörperchen in einer Salzlösung suspendiert, um eine Lösung (Suspension) mit einer Konzentration von 2 bis 5% zu erhalten. Die Blutkörperchen-Lösung wird in ein Reaktionsgefäß mit einem konischen Boden gegeben und ein bestimmtes Antiserum

wird zugefügt. Ein auf dem konischen Boden entstandenes Teilchenmuster wird gleichmäßig beleuchtet und photoelektrisch untersucht. Ein photoelektrisches Ausgangssignal wird verarbeitet, um das Muster von agglutinierten oder nicht-agglutinierten Teilchen zu beurteilen und die Blutgruppe zu bestimmen.

Bei dem oben erwähnten Verfahren zur Blutgruppenbestimmung sind verschiedene Verfahrensstufen, wie das Abzentrifugieren der Blutkörperchen, die Herstellung der Suspension von Blutkörperchen und die Zugabe von Antiserum erforderlich. Daher ist das Bestimmungsverfahren sehr mühsam. Außerdem muß, um das Teilchenmuster zu erzeugen, das Reaktionsgefäß lange still stehen. Ferner muß, um das Teilchenmuster nachzuweisen, eine genau abgestimmte Lichtquelle, Abbildungslinse, eine Mehrzahl lichtempfangender Elemente usw. vorhanden sein. Dadurch wird die gesamte Analysiervorrichtung groß, kompliziert und teuer.

In der DE-OS 25 50 420 ist ein Verfahren zur Bestimmung von Antigen oder Antikörper in einer Probe durch immunologische Reaktion und eine dafür geeignete Analyseneinrichtung beschrieben. Die Vorrichtung besteht aus einem Wellen- oder Hohlleiter, an dessen Umfangsfläche eine Substanz fixiert ist, die selektiv mit der zu bestimmenden Substanz der Probe reagiert. Ferner ist eine Lichtquelle so angeordnet, daß sie Licht an den Hohl- oder Wellenleiter überträgt, sowie eine Vorrichtung zum Messen des von dem Leiter austretenden Lichtes. Bei der Durchführung der immunologischen Bestimmung wird der Hohl- oder Wellenleiter in die zu untersuchende Probe eingetaucht und durch Messen des aus dem Hohlleiter austretenden, an der Umfangsfläche reflektierten Lichtes der Gehalt an Antigen bzw. Antikörper in der Probe bestimmt.

Es ist Aufgabe der Erfindung, eine neue Vorrichtung zur Durchführung einer immunologischen Bestimmung zu entwickeln, die klein und handlich ist und mit deren Hilfe in einer Probe enthaltene, zu bestimmende Substanzen direkt und auf sehr einfache und genaue Weise bestimmt werden können. Die Vorrichtung soll besonders geeignet sein zur Bestimmung der AB0-Blutgruppen.

Diese Aufgabe wird gelöst durch die im Hauptanspruch angegebene Vorrichtung. Besonders vorteilhafte Ausgestaltungen dieser Vorrichtung sind in den Ansprüchen 2 bis 7 angegeben.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist ein Licht-Leiter aus einer optischen Faser (optischen Fasern) vorhanden und ein Antikörper, der spezifisch mit dem zu bestimmenden Antigen in der Probe reagiert, auf der Oberfläche des einen Endes der optischen Faser fixiert. Das eine Ende der optischen Faser wird in die Probenflüssigkeit getaucht, um die Antigen-Antikörper-Reaktion durchzuführen. Dann wird der optische Zustand des einen Endes der optischen Faser photoelektrisch bestimmt, indem ein Lichtstrahl auf das andere Ende der optischen Faser auftrifft. Der Lichtstrahl geht durch die optische Faser hindurch und trifft auf die Oberfläche des einen Endes auf. Der optische Zustand dieser Fläche verändert sich entsprechend dem an den fixierten Antikörper gebundenen Antigen. Daher ist es durch Nachweis des durch die Oberfläche des ersten Endes der optischen Faser hindurchgehenden Lichts möglich, das in der Probe enthaltene Antigen zu bestimmen. Das heißt, wenn die in der Probe enthaltene Menge Antigen klein ist, wird nur eine kleine Menge Antigen an der Oberfläche des einen Endes der optischen Faser gebunden, so daß viel Licht

durch die Oberfläche dieses Endes hindurchgeht. Daher ist es durch Bestimmung der Menge des durch die optische Faser hindurchgehenden Lichtes möglich, die Gesamtmenge an Antigen in der Probe quantitativ zu bestimmen.

Der optische Zustand der ersten Endfläche kann untersucht werden, indem Licht von der zweiten Endfläche her durch den Lichtleiter geführt und das an der ersten Endfläche austretende Licht photoelektrisch gemessen wird, oder indem Licht auf die erste Endfläche des Lichtleiters auftritt und das an der zweiten Endfläche auftretende Licht photoelektrisch gemessen wird, oder indem das Licht gemessen wird, das von der ersten Endfläche reflektiert wird, oder das Licht, das zweimal durch die erste Endfläche hindurchgeht und von einem gegenüber der Endfläche angeordneten Spiegel reflektiert wird. Die Messung kann durchgeführt werden, während sich die erste Endfläche in einer Flüssigkeit oder an der Luft befindet. Die erste Endfläche kann in klarem Wasser gewaschen werden. Günstige Ergebnisse werden erzielt, wenn das Licht an der zweiten Endfläche über einen Farbfilter, dessen Durchgangslänge der Absorptionswellenlänge der in der Probe enthaltenen Substanz entspricht, in den Lichtleiter geleitet wird. Der Lichtleiter kann nach dem Eintauchen in die Probe in ein Markierungsreagens getaucht werden, umfassend eine Substanz, die spezifisch mit der zu bestimmenden Substanz der Probe reagiert, sowie eine Markierungssubstanz. Diese Markierungssubstanz kann beispielsweise ein Pigment oder ein Enzym sein.

Der Lichtleiter kann z. B. ein Lichtleitstab oder ein optisches Faserbündel sein.

Fig. 1 zeigt eine schematische Ansicht des Reaktionsverlaufes eines bekannten immunologischen Bestimmungsverfahrens;

Fig. 2 ist eine schematische Ansicht, die eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung zeigt;

Fig. 3 ist eine schematische Ansicht, die eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung zeigt (Bezugs-Licht-Leiter nicht gezeigt);

Fig. 4 und 5 sind schematische Ansichten, die weitere Ausführungsformen von erfindungsgemäßen Vorrichtungen zeigen, bei denen ein (halb-)kugelförmiges Gefäß angewandt wird (Bezugs-Licht-Leiter nicht gezeigt);

Fig. 6a und 6b sind schematische Ansichten, die weitere Ausführungsformen des Verfahrens unter Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung zeigen, bei denen ein Markierungsreagens angewandt wird (Bezugs-Licht-Leiter nicht gezeigt);

Fig. 7 und 8 sind Querschnitte durch zwei Ausführungsformen von erfindungsgemäßen Licht-Leitern, die wiederholt verwendet werden können (Bezugs-Licht-Leiter nicht gezeigt);

Fig. 9 ist eine schematische Ansicht, die eine Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Bestimmung von Blutgruppen zeigt;

Fig. 10 ist ein Blockdiagramm, das einen signalverarbeitenden Stromkreis der Vorrichtung zur Bestimmung von Blutgruppen zeigt;

Fig. 11 ist ein schematischer Querschnitt durch eine andere Ausführungsform eines Licht-Leiters der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Blutgruppen-Bestimmung zur Durchführung einer indirekten Bestimmung;

Fig. 12 ist ein schematischer Querschnitt durch eine weitere Ausführungsform eines Licht-Leiters einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Blutgruppen-Bestimmung, und zwar zur Durchführung sowohl direkter als auch indirekter Bestimmungen und

Fig. 13 ist eine perspektivische Ansicht einer weiteren Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Bestimmung von Blutgruppen.

Fig. 1 zeigt einen Reaktionsverlauf einer bekannten enzymimmunologischen Analyse unter Anwendung eines Enzyms als Markierungssubstanz. Auf der Außenseite eines unlöslichen Trägers 1 ist ein Antikörper 1A fixiert, der spezifisch mit dem in der zu untersuchenden Probe enthaltenen Antigen reagiert. Wenn in der Probe Antikörper anstelle von Antigen bestimmt werden soll, muß das Antigen, das mit der Probe spezifisch reagiert, auf dem unlöslichen Träger 1 fixiert werden. Zunächst reagiert der Antikörper 1A auf dem Träger 1 mit dem in der Probe enthaltenen Antigen 2. Dann wird freies Antigen, das nicht mit dem Antikörper 1A auf dem Träger 1 reagiert hat, von dem auf dem Träger 1 gebundenen Antigen 1A durch Waschen abgetrennt. Diese Trennstufe wird allgemein als Stufe B-F-Trennung bezeichnet. Anschließend wird der Träger 1 mit einem Markierungsreagens 3 umgesetzt, bestehend aus Antikörper 3A markiert mit Enzym 3B, wobei der Antikörper 3A spezifisch mit dem Antigen 2 der Probe reagiert. Anschließend wird erneut eine B-F-Trennung durchgeführt, um freies Markierungsreagens von dem Markierungsreagens abzutrennen, das an das Antigen 2 der Probe gebunden ist, das seinerseits mit dem Antikörper 1A, der auf dem Träger 1 fixiert ist, reagiert hat. Ferner wird ein Farbreagens zugesetzt, um eine Farbreaktion mit dem Enzym 3B des Markierungsreagens 3 durchzuführen. Schließlich wird die Reaktionsflüssigkeit kolorimetrisch untersucht, um die Enzymaktivität nachzuweisen. Auf diese Weise wird die Substanz 2 aus der Probe mit hoher Empfindlichkeit quantitativ bestimmt. Dieses immunologische Bestimmungsverfahren wird weitgehend angewandt.

Fig. 2 ist eine schematische Ansicht einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Bei dieser Ausführungsform umfaßt der Licht-Leiter G einen Meßleitstab 20 und einen Bezugsleitstab 21, die an ihren Längsseiten miteinander verbunden sind. Auf der Endfläche 20a des Stabes 20 ist Antikörper 23 fixiert, der spezifisch mit zu bestimmenden Blutkörperchen 23 reagiert. Ferner sind eine Lichtquelle 24, ein (reflektierender) Spiegel 25 und ein Paar lichtaufnehmender Elemente 26 und 27 vorgesehen. Die Stäbe 20 und 21 sind mit Schutzschichten 28 bzw. 29 überzogen.

Aus der Lichtquelle 24 austretendes und von dem Spiegel reflektiertes Licht trifft auf die anderen Endflächen 20b und 21b der Stäbe 20 und 21 auf und geht durch die Stäbe zu deren Endflächen 20a bzw. 21a. Da auf der Endfläche 20a des Stabes 20 Blutkörperchen 23 gebunden sind, wird das Licht an der Endfläche 20a reflektiert. Die an der Endfläche 20a reflektierte Lichtmenge ist proportional der Menge an Blutkörperchen 23, die an dem auf der Endfläche 20a fixierten Antikörper 22 gebunden sind. Im Gegensatz dazu geht — da an der Endfläche 21a des Bezugsstabes 21 keine Blutkörperchen gebunden sind — auf diese Endfläche 21a auftreffendes Licht nahezu vollständig hindurch und es wird nur eine geringe Lichtmenge reflektiert. Die an den Endflächen 20a und 21a der Stäbe 20 bzw. 21 reflektierten Lichtstrahlen gehen durch die Stäbe 20 bzw. 21 hindurch, werden von dem Spiegel 25 reflektiert und treffen auf die lichtaufnehmenden Elemente 26 bzw. 27 auf. Durch Vergleich der Ausgangssignale der lichtaufnehmenden Elemente 26 und 27 ist es möglich, die Menge an Blutkörperchen in einer Blutprobe zu messen. Bei dieser Ausführungsform können, da ein Bezugskanal aus dem

Licht-Leitstab 21 und dem Lichtaufnehmeelement 27 vorhanden ist, Fehlerquellen wirksam beseitigt werden, so daß die Bestimmungsgenauigkeit verbessert wird.

Fig. 3 ist eine schematische Ansicht, die eine Modifizierung der in Fig. 2 angegebenen Ausführungsform zeigt, wobei der Bezugs-Licht-Leiter hier und in den folgenden Fig. 3—8 nicht gezeigt ist. Bei dieser Ausführungsform ist zusätzlich ein Gefäß 30, dessen Bodenfläche 31 verspiegelt ist, vorhanden. Nach der Antigen-Antikörper-Reaktion wird der Licht-Leiter *G* aus einem Lichtleit-Stab 20 und einer Schutzschicht 28 in eine darin enthaltene Salzlösung 32 getaucht.

Von der Lichtquelle 24 ausgesandtes Licht wird von einem Spiegel 25 reflektiert und trifft auf die Endfläche 20b des Stabes 20 auf. Das Licht geht durch den Stab 20 hindurch und wird von den Blutkörperchen 23, die an der Endfläche 20a des Stabes 20 fixierten Antikörper 22 gebunden sind, teilweise absorbiert. Das durch die Endfläche 20a hindurchgehende Licht wird von der Spiegelfläche 31 in dem Gefäß 30 reflektiert und trifft erneut auf die Endfläche 20a auf. Das Licht wird erneut teilweise von den Blutkörperchen absorbiert und geht durch den Stab 20 hindurch und tritt an der Endseite 20b aus dem Stab 20 aus. Das Licht wird dann von dem Spiegel 25 reflektiert und trifft auf das lichtempfangende Element 26. Bei dieser Ausführungsform wird, da das Licht zweimal durch die Blutkörperchen 23 hindurchgeht, Signal/Rausch-Verhältnis (S/N) des Ausgangssignals von dem lichtaufnehmenden Element 26 vergrößert und die Analysegenauigkeit verbessert.

Fig. 4 ist eine schematische Ansicht einer anderen Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Bei dieser Ausführungsform ist ein Gefäß 35 mit einem kugelförmigen Boden vorhanden, dessen Boden innen verspiegelt ist. Nachdem die Blutkörperchen aus der Probe auf der Endfläche des Lichtleiters *G* gebunden sind wird dieser so angeordnet, daß die Endfläche sich im Mittelpunkt des kugelförmigen Bodens des Gefäßes 35 befindet. Wenn paralleles Licht auf das Gefäß 35 auftrifft, werden die auf den runden Boden des Gefäßes 35 auftreffenden Strahlen von dem Spiegel 36 reflektiert und sammeln sich auf der Endfläche des Licht-Leiters *G*. Die in den Licht-Leiter *G* eindringenden Strahlen treffen auf ein lichtaufnehmendes Element 37.

Fig. 5 zeigt eine Modifikation der Ausführungsform des Gefäßes nach Fig. 4. Bei dieser Ausführungsform ist ein Licht-Leiter *G* an einem Arm 38a eines Gefäßes mit einem kugelförmigen Boden und einer verspiegelten Innenseite des Bodens 39 fixiert. Die Anordnung aus Licht-Leiter *G* und Gefäß 38 wird in eine Blutprobe eingetaucht, so daß die Antigen-Antikörper-Reaktion ablaufen kann und dann wird der Zustand der Endfläche des Licht-Leiters *G* photoelektrisch bestimmt mit Hilfe eines lichtempfangenden Elements 37, während die Anordnung in der Blutprobe verbleibt.

Es ist auch möglich, die Messung vorzunehmen nachdem die Anordnung aus dem Reaktionsgefäß entnommen und die Blutprobe durch eine klare Flüssigkeit, wie Wasser oder Salzlösung, ersetzt worden ist.

Fig. 6a ist eine schematische Ansicht einer anderen Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Bei dieser Ausführungsform umfaßt der Licht-Leiter *G* einen Lichtleit-Stab 40 und eine Schutzschicht 41, die auf den Stab 40 mit Ausnahme der Endflächen 40a und 40b aufgebracht ist. Auf der Endfläche 40a ist ein Antikörper 42 fixiert, der spezifisch mit dem in der zu untersuchenden Probe enthaltenen Antigen 43 reagiert. Zunächst wird eine Antigen enthaltende zu untersuchen-

Probe in ein Reaktionsgefäß 46 gegeben und die Spitze des Licht-Leiters *G* in die Probe eingetaucht, um die Antigen-Antikörper-Reaktion herbeizuführen. Dann wird ein Reagens aus einem markierten oder mit Pigment 45 gekuppelten Antikörper 44 in das Reaktionsgefäß 46 gegeben, nachdem die Probe daraus entfernt worden ist. Auf diese Weise wird eine zweite Antigen-Antikörper-Reaktion durchgeführt, um den Antikörper 43 des Reagens mit dem Antigen 42 der Probe zu koppeln, wie in Fig. 6a gezeigt. Dann wird die Menge Pigment 45, die an die Endseite 40a des Stabes 40 gebunden ist, photoelektrisch nachgewiesen mit Hilfe der Lichtquelle 47 und des lichtempfangenden Elementes 48. Das heißt, von der Lichtquelle 47 ausgesandtes Licht gelangt in den Stab 40 über dessen Endfläche 40b und wird innerhalb des Stabes geleitet. Das durch die Endfläche 40a hindurchgehende Licht wird von dem lichtempfangenden Element 48 aufgenommen. Dieses Licht wird von dem Pigment 45, das an der Endseite 40a des Stabes 40 gebunden ist, absorbiert.

Fig. 6b ist eine schematische Ansicht, die eine modifizierte Ausführungsform des Verfahrens unter Verwendung der in Fig. 6a gezeigten Vorrichtung darstellt. Bei dieser Ausführungsform wird ein Reagens angewandt bestehend aus Antikörper 43, markiert mit Enzym 49 statt mit Pigment 45. Nachdem das Enzym 49 an die Endfläche 40a des Lichtleit-Stabes 40 gebunden ist, wird ein Farbreagens zur Durchführung einer Enzymreaktion zugesetzt. Die Farbe der Enzymreaktions-Flüssigkeit ist ein Maß für die in der Probe enthaltene Menge Antigen 43. Auf diese Weise kann eine Substanzmenge, die nicht direkt gemessen werden könnte, mit Hilfe geeigneter Reagentien nachgewiesen werden.

Fig. 7 ist ein Querschnitt der eine andere Ausführungsform eines Licht-Leiters nach der Erfindung zeigt. Bei dieser Ausführungsform umfaßt der Licht-Leiter *G* einen Lichtleit-Stab 50, eine Schutzschicht 51, die auf den Stab mit Ausnahme der Endflächen 50a und 50b aufgebracht ist. Auf dem Endteil des Stabes ist abnehmbar aufgesteckt ein kappenartiges Teil 52 aus transparentem Kunststoff, wie Polypropylen, Polycarbonat und Polystyrol, und auf der anderen Außenfläche des kappenartigen Teils 52 ist Antikörper 53 fixiert, der spezifisch mit dem in einer Probe enthaltenen Antigen reagiert. Nach der Messung wird das kappenartige Teil 52 von dem Licht-Leiter *G* entfernt und ein neues kappenartiges Teil auf den Endteil aufgesteckt. Wenn eine Anzahl kappenartiger Teile mit unterschiedlichen daran fixierten Antikörpern hergestellt wird, können verschiedene Bestandteile untersucht werden, während der Licht-Leiter *G* wiederholt verwendet wird.

Fig. 8 zeigt einen Querschnitt durch eine andere Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Licht-Leiters. Bei dieser Ausführungsform umfaßt der Licht-Leiter *G* einen Lichtleit-Stab 60 und eine Schutzschicht 61, die auf den Stab mit Ausnahme der Endflächen 60a und 60b aufgebracht ist. Auf der Endfläche 60a sind S-S-Bindungen 62 und Antikörper oder Antigen 63 fixiert, die an die S-S-Bindungen 62 gebunden sind, wobei der Antikörper oder das Antigen 63 spezifisch mit Antigen oder Antikörper in der zu untersuchenden Probe reagieren. Nach der Messung durch Bindung von Antigen oder Antikörper aus der Probe an Antikörper oder Antigen 63 wird die S-S-Bindung 62 aufgebrochen und neue S-S-Bindungen gebildet. Auf diese Weise kann der Licht-Leiter *G* wiederholt verwendet werden. Wenn das kappenartige Teil 52 und die S-S-Bindungen 62 nicht angewandt werden, wird das Ende des Lichtleiters abgeschnitten und

erneut Antikörper oder Antigen daran gebunden.

Fig. 9 ist eine schematische Ansicht, die eine Ausführungsform einer Vorrichtung zur Blutgruppen-Bestimmung nach der Erfindung zeigt. Eine Blutprobe 71 ist in einem Reaktionsgefäß 72 enthalten und ein Endteil eines Licht-Leiters *G* taucht in die Blutprobe 71 ein. Der Licht-Leiter umfaßt einen ersten, einen zweiten und einen dritten Lichtleit-Stab 73, 74 und 75, die mit einer Schutzschicht 76 aus einem lichtabschirmenden Material überzogen sind. Auf einer Endfläche 73a des Stabes 73 sind A-Antikörper 77 fixiert, die spezifisch mit A-Blutkörperchen in einer Blutprobe reagieren. Auf der Endfläche 74a des Stabes 74 sind B-Antikörper fixiert, die spezifisch mit B-Blutkörperchen in der Probe reagieren. Der dritte Stab 75 dient als Bezugs-Licht-Leitstab und auf der Endfläche 75a dieses Stabes 75 sind keine reaktionsfähigen Komponenten fixiert. Ferner sind eine Lichtquelle 79, ein Spiegel 80, ein erstes, zweites und drittes lichtaufnehmendes Element 81, 82 und 83 vorgesehen.

Von der Lichtquelle 79 ausgesandtes Licht wird von dem Spiegel 80 reflektiert und trifft auf die Endflächen 73b, 74b und 75b der Stäbe 73, 74 und 75 auf, geht dann durch die Stäbe 73, 74 und 75 hindurch bis zu den Endflächen 73a, 74a und 75a. Auf den Endflächen 73a und 74a werden selektiv Blutkörperchen entsprechend der Blutgruppe der Probe gebunden. Wenn Blutkörperchen an die Endflächen 73a bzw. 74a gebunden werden, werden die Lichtstrahlen von den Blutkörperchen reflektiert und treffen auf die lichtempfangenden Elemente 81 bzw. 82 auf. Auf der Endfläche 75a des Stabes 75 ist kein Antikörper fixiert, so daß dort keine Blutkörperchen gebunden werden und nahezu das gesamte Licht durch die Endfläche 75a hindurchgeht. Daher ist es durch Vergleich der Ausgangssignale der lichtempfangenden Elemente 81 bzw. 82 mit einem Ausgangssignal des lichtempfangenden Elements 83 möglich, A-Blutkörperchen bzw. B-Blutkörperchen, die an die Endfläche 73a bzw. 74a des Stabes 73 bzw. 74 gebunden sind, nachzuweisen.

Fig. 10 zeigt einen Schaltkreis zur Bestimmung von Blutgruppen. Die Ausgangssignale aus den lichtaufnehmenden Elementen 81 und 83 werden in einen ersten Differentialverstärker 84 geführt und die Ausgangssignale von den lichtempfangenden Elementen 82 und 83 werden in einen zweiten Differentialverstärker 85 geführt. Dann zeigt ein Ausgangssignal aus dem ersten Differentialverstärker 84, ob Blutkörperchen vom A-Typ an die Endfläche 73a des ersten Lichtleit-Stabes 73 gebunden sind und ähnlich zeigt ein Ausgangssignal von dem zweiten Differentialverstärker 85, ob Blutkörperchen vom B-Typ an die Endfläche 74a des Lichtleit-Stabes 74 gebunden sind. Diese Ausgangssignale werden in einen Signalverarbeitungskreis 86 geführt, der die Blutgruppe der Probe entsprechend der folgenden Tabelle bestimmt.

Tabelle

	An den 1. Lichtleiter gebundene Teilchen	An den 2. Lichtleiter gebundene Teilchen	Blutgruppe
5	+	—	A
	+	+	AB
	—	+	B
10	—	—	0

Anmerkung: + bedeutet, daß Blutkörperchen an die Endfläche des ersten bzw. zweiten Lichtleitstabs gebunden sind und — bedeutet, daß keine Blutkörperchen an die Endflächen gebunden sind.

Ein in der Signalverarbeitungs-Einheit 86 festgestelltes Ergebnis wird durch einen Ausgang 87, wie einen Drucker oder einen Monitor, angezeigt.

Auf die oben beschriebene Weise ist es erfindungsgemäß möglich, die Blutgruppe einer Blutprobe auf einfache und genaue Weise zu bestimmen.

Fig. 11 ist ein Querschnitt durch eine andere Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Lichtleiters. Bei der in Fig. 10 gezeigten Ausführungsform werden die in einer Blutprobe enthaltenen Blutkörperchen nachgewiesen. Dieses Verfahren wird üblicherweise als direktes Bestimmungsverfahren bezeichnet. Bei der Ausführungsform der Fig. 11 handelt es sich um eine sogenannte indirekte Bestimmung. Hierzu ist auf der Endfläche 73a des Lichtleit-Stabes 73 ein A-Antigen 88 fixiert, das spezifisch mit dem in einer Blutprobe enthaltenen A-Antikörper reagiert, und auf der Endfläche 74a des Lichtleit-Stabes 74 ist B-Antigen 89 fixiert, das spezifisch mit in der Probe enthaltenen B-Antikörper reagiert. Der Endteil des Licht-Leiters *G* taucht in eine Blutprobe ein, um die Antigen-Antikörper-Reaktion herbeizuführen. Wenn die Probe A-Antikörper enthält werden diese an das A-Antigen 88 auf der Endfläche 73a des Stabes 73 gebunden, während, wenn die Probe keine A-Antikörper sondern B-Antikörper enthält, diese an das B-Antigen 89 auf der Endfläche 74a des Stabes 74 gebunden werden. Wenn die Antikörper aus der Probe an die Endfläche gebunden werden, wird diese opak, so daß der optische Zustand der Endflächen 73a bzw. 74a der Stäbe 73 bzw. 74 photoelektrisch auf ähnliche Weise bestimmt werden kann wie für Fig. 9 beschrieben. Auf diese Weise kann das Vorliegen von A-Antikörpern und/oder B-Antikörpern in der Probe nachgewiesen werden.

Fig. 12 zeigt eine schematische Ansicht einer weiteren Ausführungsform des Licht-Leiters *G* nach der Erfindung. Bei dieser Ausführungsform werden der direkte Nachweis und der indirekte Nachweis gleichzeitig durchgeführt, so daß die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Blutgruppen-Bestimmung weiter erhöht werden können. Bei dieser Ausführungsform umfaßt der Licht-Leiter *G* sechs Lichtleit-Stäbe 91 bis 96. Die Endflächen 91a, 92a und 93a der Stäbe 91, 92 und 93 befinden sich auf der gleichen Höhe und die Endflächen 94a, 95a und 96a der Stäbe 94, 95 und 96 befinden sich ebenfalls auf der gleichen Höhe, jedoch höher als die Endflächen 91a, 92a und 93a. Die jeweils anderen Endflächen 91b bis 96b der Stäbe 91 bis 96 befinden sich alle auf gleicher Höhe. Auf der Endfläche 91a des Stabes 91 ist ein A-Antikörper 97 fixiert, der spezifisch mit A-Blutkörperchen in der Probe reagiert und auf der Endfläche 92a des Stabes 92 ist B-Antikörper 98 fixiert, der spezi-

fisch mit B-Blutkörperchen in der Probe reagiert. Ferner ist auf der Endfläche 94a des Stabes 94 A-Antigen 99, das spezifisch mit A-Antikörper in der Probe reagiert, und auf der Endfläche 95a des Stabes 95 B-Antigen 100 fixiert, das spezifisch mit B-Antikörper in der Probe reagiert. Auf den Endflächen 93a und 96a der Stäbe 93 und 96 sind weder Antikörper noch Antigen fixiert. Daher dienen diese Stäbe 93 und 96 als Bezugslicht-Leiter.

Bei dieser Ausführungsform wird eine Blutprobe in ein Reaktionsgefäß 101 gegeben und dieses still stehen gelassen oder zentrifugiert, um die Blutprobe in einen Blutklumpen 102 und Plasma 103 zu trennen. Die Endflächen 91a bis 93a der Stäbe 91 bis 93 tauchen in den Blutklumpen 102 und die Endflächen 94a bis 96a der Stäbe 94 bis 96 tauchen in das Plasma 103. Daher werden in dem Klumpen 103 enthaltene Blutkörperchen an die Endflächen 91a und/oder 91b gebunden oder nicht gebunden und die Antigene in dem Plasma 103 werden an die Endflächen 94a und/oder 95a gebunden oder nicht gebunden. Dann wird der optische Zustand der Endflächen 91a, 92a, 94a und 95a photoelektrisch gemessen, während die Stäbe 93 und 96 jeweils als Bezugskanäle angewandt werden, um einen direkten und einen indirekten Nachweis der Blutgruppe durchzuführen. Bei dieser Ausführungsform ist es nicht immer erforderlich, die Blutprobe in einen Klumpen und Plasma aufzutrennen, sondern der Licht-Leiter G kann auch in die Gesamtblut-Probe getaucht werden. In diesem Falle ist es nicht erforderlich, daß sich die Endflächen 91a bis 93a und 94a bis 96a auf verschiedene Höhen befinden.

Fig. 13 ist eine perspektivische Ansicht einer weiteren Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Licht-Leiters. Bei dieser Ausführungsform umfaßt der Licht-Leiter G eine einzige Stab-Linse 110. Auf der Endfläche 110a der Stab-Linse 110 sind A-Antikörper 111, B-Antikörper 112, A-Antigen 113 und B-Antigen 114 fixiert. Auf der anderen Endfläche 110b der Stab-Linse 110 ist ein Aufnahmeblock 115 angeordnet, auf dem fünf Bildsensoren 116 bis 120 angeordnet sind. Diese Bildsensoren 116 bis 120 können eine CCD, statische Induktions-Transistor-Anordnung oder Photodiodenanordnung sein. Der Aufnahmeblock 115 befindet sich auf der Endfläche 110b der Stab-Linse 110 in einer solchen Stellung, daß die Bildsensoren 116 bis 119 Bilder aufnehmen können von Antikörper und Antigen 111 bis 114, die auf der Endfläche 110b der Stab-Linse 110 entstanden sind, und der Bildsensor 120 kann ein Bild eines Teils der Endflächen 110a aufnehmen, auf dem kein Antikörper oder Antigen fixiert ist. Dann kann der Bildsensor 120 als Vergleichskanal dienen. Durch geeignete Verarbeitung der Ausgangs-Videosignale von den Bildsensoren 116 bis 120 ist es möglich, eine direkte und indirekte Bestimmung der Blutgruppen gleichzeitig durchzuführen.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Bestimmung von Antigen oder Antikörper in einer Probe durch immunologische Reaktion, umfassend:
einen Licht-Leiter mit einer ersten und einer zweiten Endfläche, auf dessen erster Endfläche eine Substanz fixiert ist, die selektiv mit der zu bestimmenden Substanz der Probe reagiert; eine Lichtquelle, die ein durch den Licht-Leiter hindurchgehendes Licht aussendet und
einen photoelektrischen Detektor zum Nachweis des durch den Licht-Leiter hindurchgegangenen

und von der ersten Endfläche modulierten Lichts zur Bestimmung des optischen Zustands der ersten Endfläche,

dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich einen Bezugskanal aufweist, umfassend einen Bezugs-Licht-Leiter (21), der an der Längsseite mit dem Licht-Leiter verbunden ist und keine selektiv mit der zu bestimmenden Substanz der Probe reagierende Substanz enthält, sowie einen Bezugs-Photodetektor (27) zur Bestimmung des durch den Bezugs-Licht-Leiter hindurchgegangenen Lichts.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der optische Zustand des Licht-Leiters bestimmt wird durch Bildung der Differenz der Ausgangs-Signale der Photodetektoren.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich ein Gefäß umfaßt mit einer reflektierenden Bodenfläche, die sich gegenüber der ersten Endfläche des Licht-Leiters befindet.

4. Vorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die reflektierende Bodenfläche eine Kugelfläche ist.

5. Vorrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Licht-Leiter so an dem Gefäß befestigt ist, daß die erste Endfläche sich im wesentlichen im Mittelpunkt der Kugelfläche befindet.

6. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Licht-Leiter ein Licht-Leitelelement und eine Kappe aus transparentem Material umfaßt, die abnehmbar an dem ersten Ende des Licht-Leiters befestigt ist und auf deren Außenseite die Substanz fixiert ist, die spezifisch mit der zu bestimmenden Substanz der Probe reagiert.

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die spezifisch mit der Substanz der Probe reagierende Substanz auf der ersten Endfläche des Lichtleiters über S-S-Bindung fixiert ist.

8. Verwendung der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur immunologischen Bestimmung von Blutgruppen.

Hierzu 8 Blatt Zeichnungen

FIG. 1

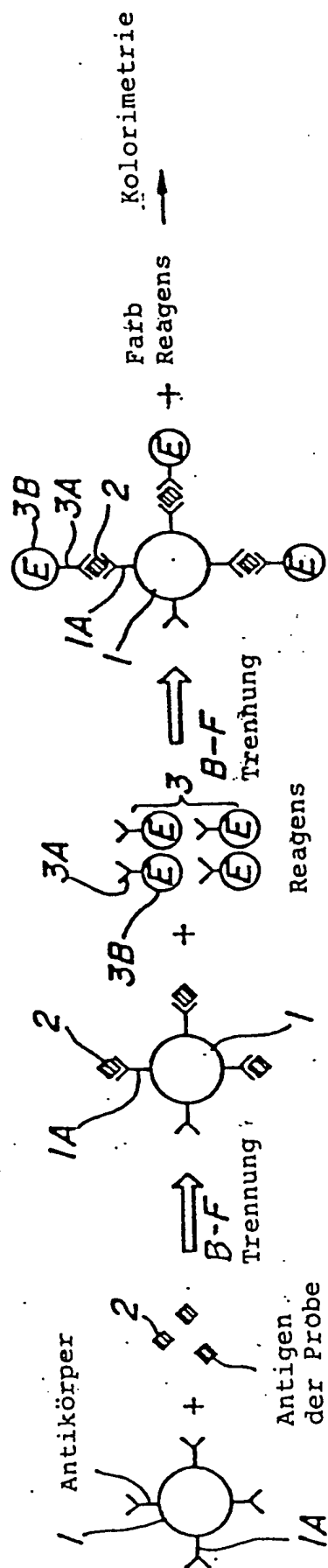


FIG. 2

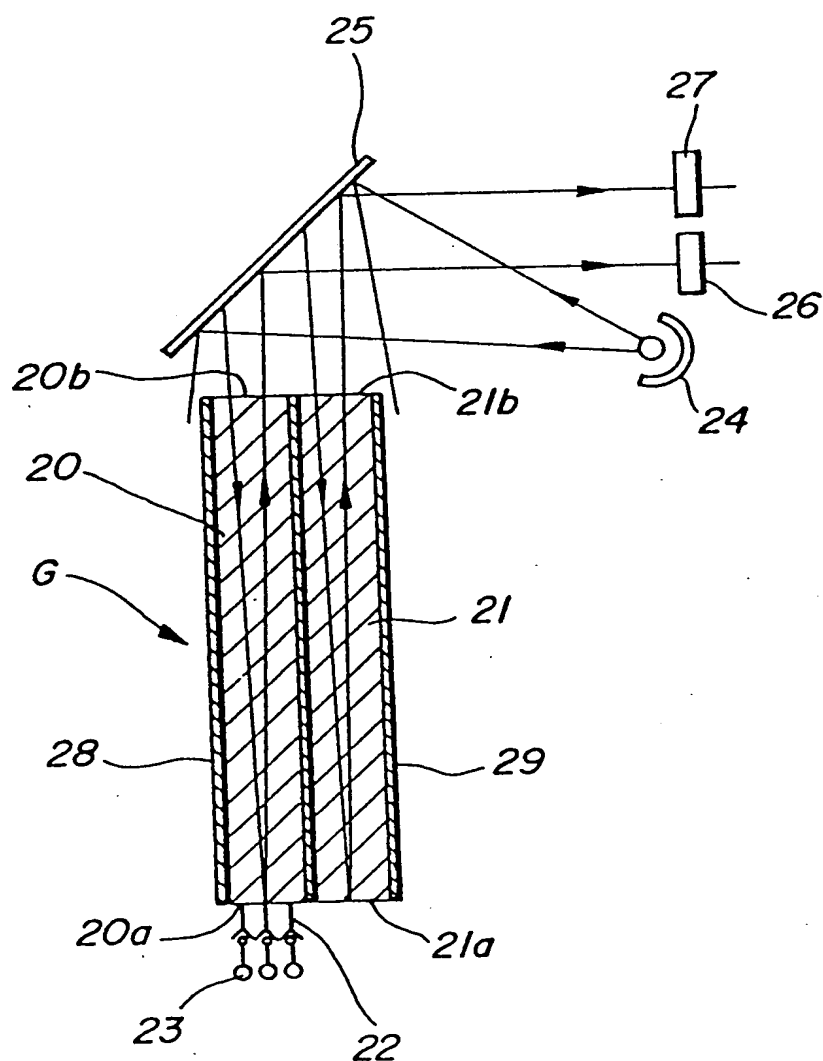


FIG. 3

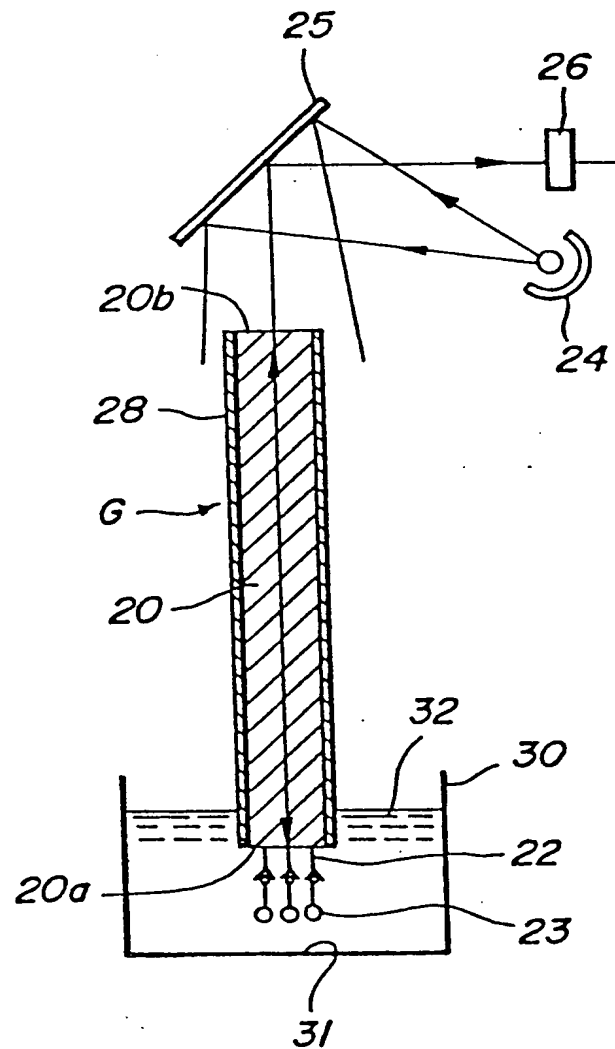


FIG. 4

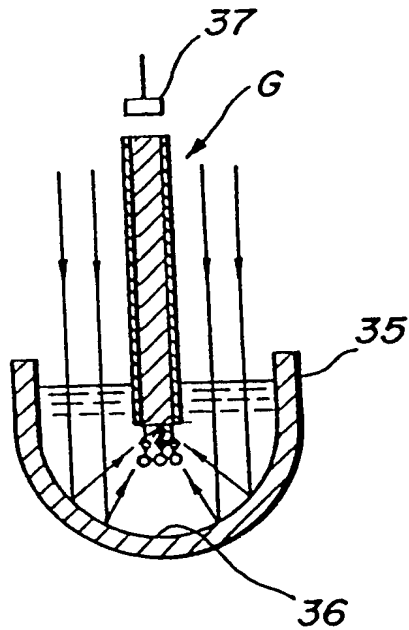


FIG. 5

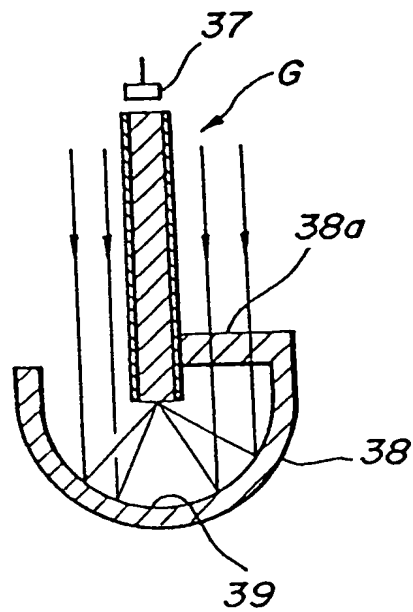


FIG. 6a

FIG. 6b

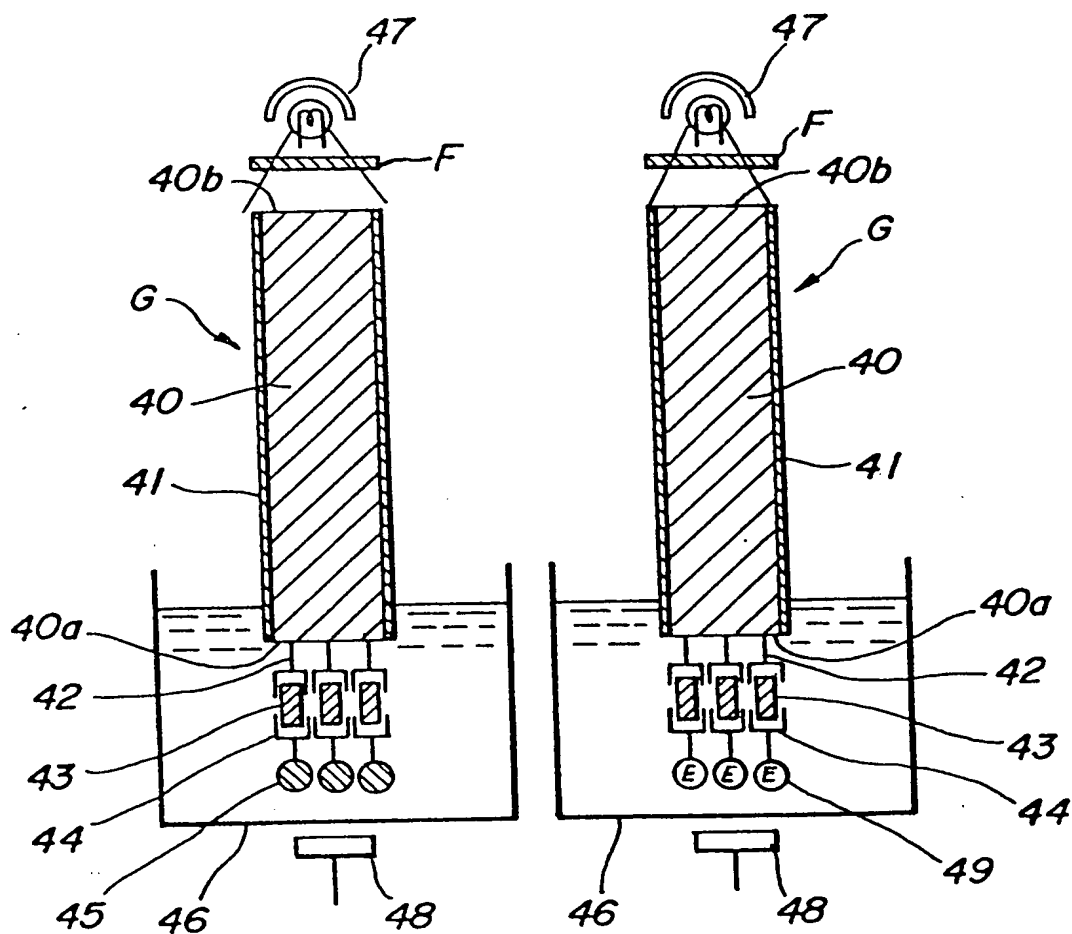


FIG. 7

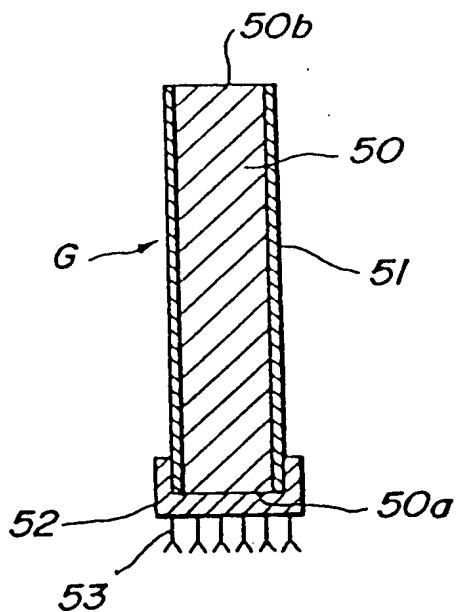


FIG. 8

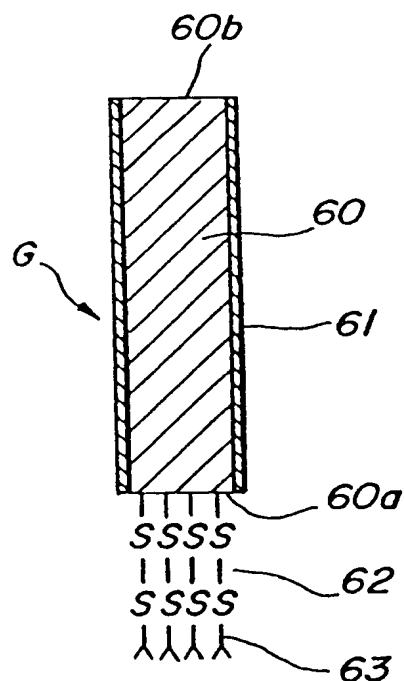


FIG. 9

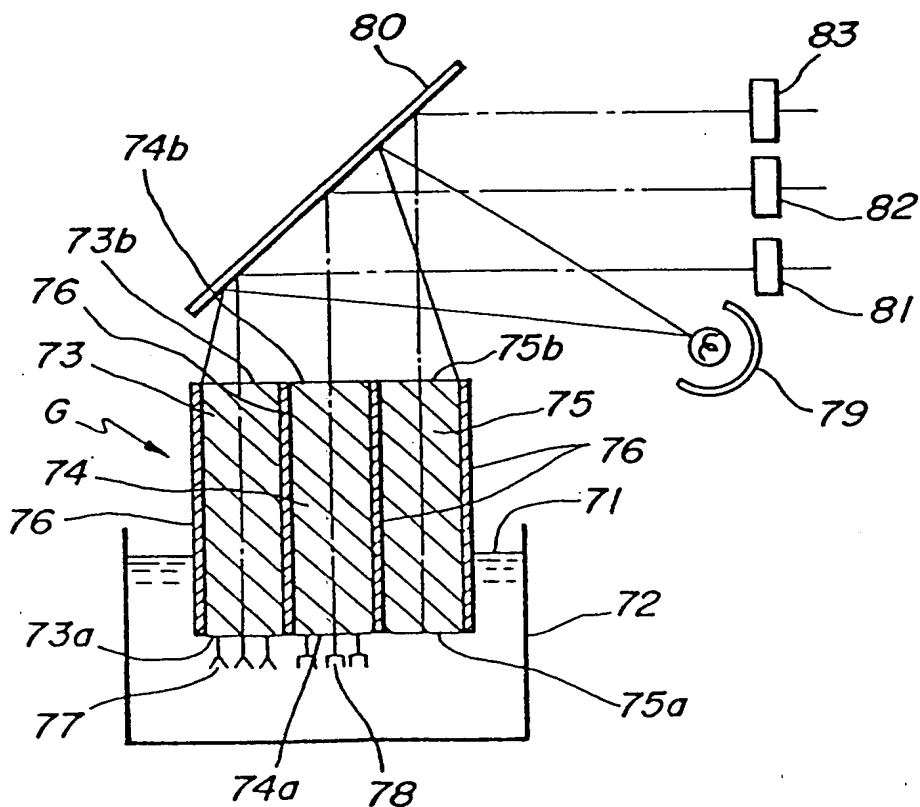


FIG.10

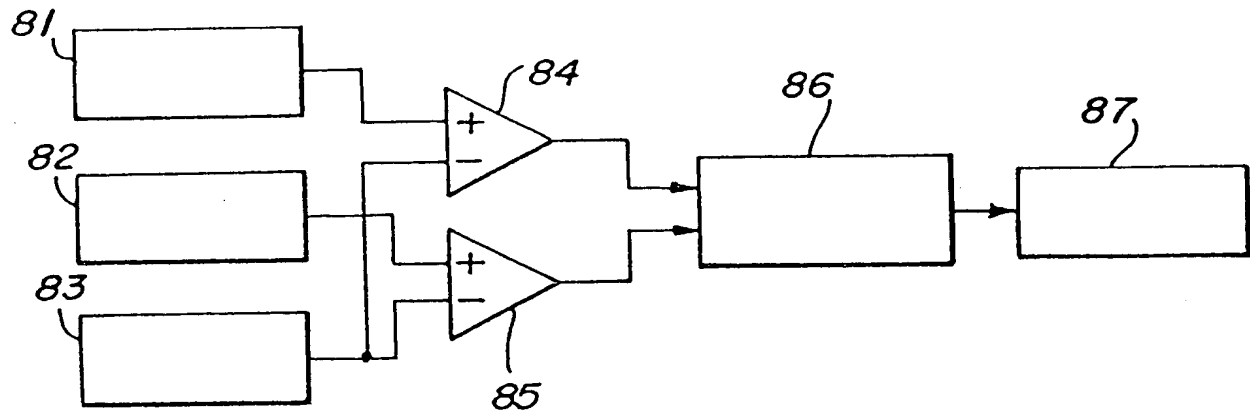


FIG.11

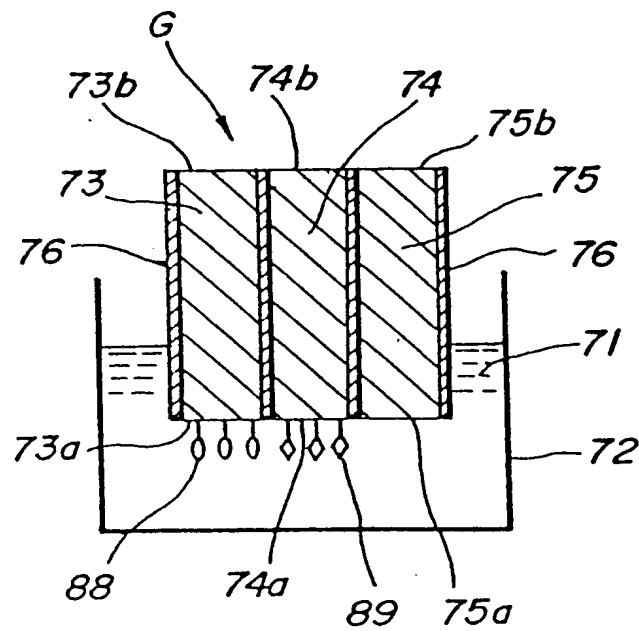


FIG.12

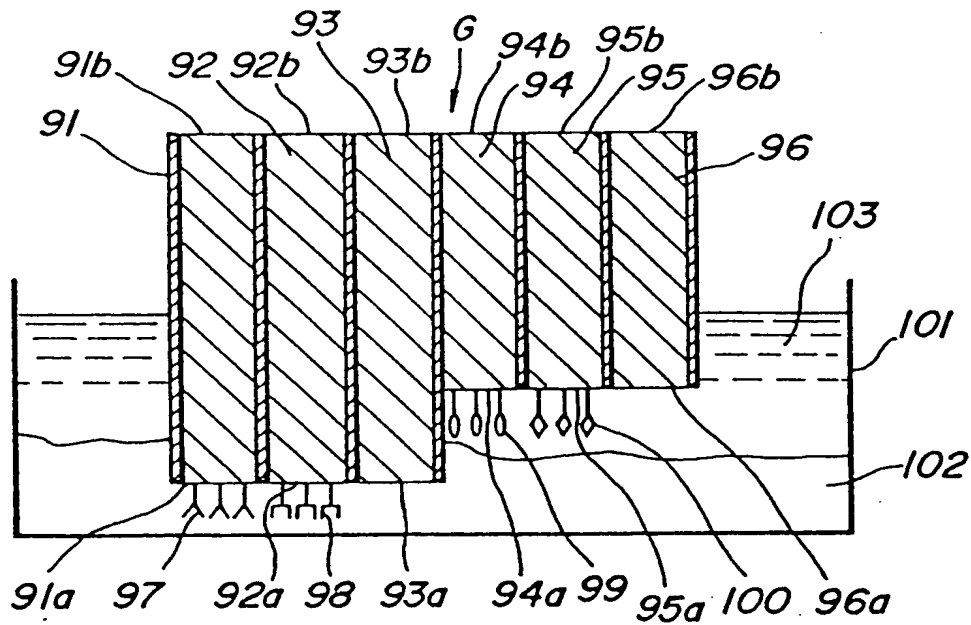


FIG.13

